云 南 植 物 研 究 1999，21（1）：109～113
Acta Botanica Yunnanica

金鱼草下胚轴不同部位切段形态发生能力的研究*

姜维梅 梁海曼 钟华鑫
（杭州大学生命科学学院，杭州 310012）

摘要 金鱼草（*Antirrhinum majus* L.）下胚轴不同部位切段的形态发生能力有很大差异。在外源添加 BA，NAA 的情况下，金鱼草下胚轴近基部切段培养物的芽、根发生明显高于其上各部位切段，以近基部切段为外植体培养时，其形态发生能力以 BA 和 NAA 配合为好，最适剂量为 BA 1.0mg/L + NAA 0.15mg/L。

关键词 金鱼草，胚轴切段，不定芽，根的发生
分类号 Q 945

Study on Morphogenetic Response in Hypocotyl Segments of *Antirrhinum majus*

JIANG Wei - Mei LIANG Hai - Man ZHONG Hua - Xin
（*College of Life Science*, *Hangzhou University*, Hangzhou 310012）

Abstract *Antirrhinum majus* seedlings hypocotyls, 20 mm in length, cut into three segments, which were cultured on MS medium and MS medium added with BA and NAA. The results indicated that adventitious buds and roots formation were higher in the basal hypocotyl segments than in the two upper hypocotyl segments. When the basal hypocotyl segments were cultured on the medium with different concentration of BA and NAA, the result was that the morphogenetic response was much better with BA and NAA supplemented. The most optimum concentration was BA 1.0mg/L + NAA 0.15mg/L.

Key words *Antirrhinum majus*, Hypocotyl segments, Adventitious buds, Roots formation

金鱼草（*Antirrhinum majus* L.）又名龙口花、龙头花，是一种重要的观赏花卉植物。由于在金鱼草中存在大量的突变体，在植物发育分子生物学研究方面也是一个重要材料。目前已从金鱼草突变体中克隆了与花分化有关的多个基因（Luo *et al*，1996）。对于这些基因需要有合适可靠的基因转化受体。因此，无论从快繁或从建立良好受体系统角度，都有需要准确细致地掌握金鱼草外植体再生植株的组织培养技术。

一般来说，幼苗的下胚轴是常被用作研究植株再生能力比较好的外植体。金鱼草组织培养试验也颇多以胚轴切段作为外植体（沈洁明等，1990；Harte *et al*，1991；Holford *et al* 1992；余迪求等，1996）。Okubo 等（1991）还首次报告过胚轴不同部位切段芽根再生能力与胚轴不同部位内源细胞分裂素及生长素含量水平间存在相关。但文中没有进行过比较

* 国家自然科学基金资助项目（39400078）
1998 - 04 - 20 收稿，1998 - 06 - 25 接受发表

系统的外源细胞分裂素和外源生长素最适浓度以及外源细胞分裂素和生长素相配合影响胚轴不同部位切段芽、根再生的试验，而这一点对于准确掌握金鱼草组培再生技术是必要的。因此，本文进一步进行金鱼草下胚轴不同部位切段的培养试验，以更好地确定金鱼草下胚轴不同部位切段器官分化能力及与其内源激素水平间的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

金鱼草种子由英国 John Innes 研究所罗达博士赠送。

1.2 材料处理与培养

种子用70%酒精浸泡2 min，用含10%次氯酸钠的0.5%SDS灭菌5 min，再用无菌水冲洗4~5次后，接种在MS基本培养基+3%蔗糖+0.8%琼脂的固体培养基上。培养温度20±1℃，每天光照14 h，光照强度1 600 lx，以准备无菌苗。

将萌发15~20 d的无菌苗（苗高约20 mm）的下胚轴切成上、中、下三段（图1，每段长约5~7 mm）作为外植体，分别接种到附加有不同浓度植物激素（NAA，BA）的培养基上进行分化培养。温度25±1℃，连续光照，光强2 500 lx。

所有试验均在培养后14 d、40 d分别统计其不定芽与不定根的发生率，每一处理取20个切段。本文实验重复2次，实验结果基本一致，表中所列数字为两次实验的平均值。

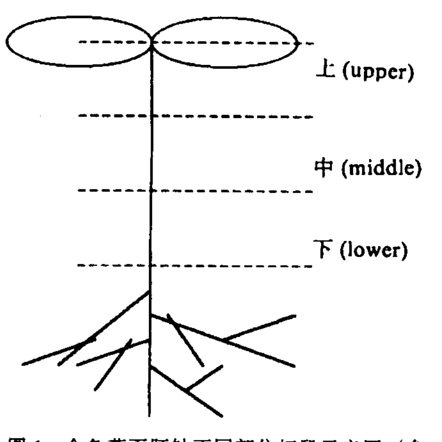


图1 金鱼草下胚轴不同部位切段示意图（参考 Okubo *et al*，1991）

Fig.1 Schematic drawing of A. majus hypocotyl different sections (reference to Okubo *et al*, 1991)

2 结果与分析

2.1 下胚轴不同部位切段的培养反应性

金鱼草下胚轴不同部位的培养反应有很大差异（表1）。

接种在不附加任何激素的MS基本培养基上(3%蔗糖+0.8%琼脂)，培养10 d可以看到在下胚轴的上、中、下三部位的切段的两端切口处有少量绿色愈伤组织产生。上中部切段看不到不定芽的发生，而下部切段的一端可见有不定芽发生，发生频率为45%。第14 d后，上中部切段仍无不定芽发生，而下部切段上的不定芽已开始伸长，叶片开始展开，不定芽发生频率已高达70%。生长40 d后，上中部切段均已褐化死亡，而下部切段则已抽枝，并在枝的基部形成不定根，成为再生苗，但苗比较细弱，叶片颜色偏黄绿。表明金鱼草幼苗的胚轴只有下部切段具有形态发生能力。

在附加NAA 0.1 mg/L的培养基上，下胚轴上、中、下切段切口处均有愈伤组织发生。其中上中部切段的愈伤组织较大，而下部切段的愈伤组织较小。生长10 d后，上部切段其发根率为80.5%，根呈白色纤毛状，无不定芽发生。中部切段发根率为85%，根较粗，横向长出，也无不定芽发生。下部切段根的发生率为94.5%，根细长，与上中部切段不

同的是下部切段已开始有芽的分化，分化频率为 48.5%。生长 40 d 后，上部切段 100%形成根，有少量芽分化，仅 15%成枝，枝弱，矮小；中部切段 100%形成根，分化枝的频率也仅为 15%，枝矮小；下部切段 100%形成根，87.5%能形成枝，幼枝叶色较绿，苗高，但长势稍弱。NAA 添加后的胚轴上、中段不定枝发生率虽然还不高，但联系到不定根发生率的大幅度上升可以认为上、中部切段在无激素培养下不能形成不定根和不定枝的原因之一是由于内源生长素含量不足。

在附加 BA 1.0 mg/L 的培养基上，下胚轴不同部位切段的表现也有很大区别。外植体切口处均形成愈伤组织，但每一切段通常可见一端愈伤组织较大，呈绿色，另一端愈伤组织则较小。培养 10 d 左右，在愈伤组织与未愈伤化的外植体交界处以及切段中部产生一些不定芽，不定芽的发生在胚轴上、中、下不同部位的区别如下：上部切段不定芽发生频率为 5.5%，中部切段为 18.4%，下部切段为 76.5%，可以看出在添加 BA 时下部切段不定芽发生频率仍显著较高。培养 40 d 后，上部切段上已分化的芽没能进一步发育，培养物也无根的分化，愈伤组织则褐化死亡。中部切段已分化的芽在进一步发育过程中，有的死亡，有的不发育，导致芽的分化率降至 13.8%，有根的分化但仅达到 5.5%，其余愈伤组织也褐化死亡。下部切段再生枝的频率为 73.5%，比 14d 时的不定芽的分化率（76.5%）略低，说明随着培养时间的延长，个别早期已分化的芽没能进一步发育，甚至死亡。生根率为 55.6%，长成的幼苗颜色较绿，长势稍弱。与无激素及添加 NAA 的相比，添加 BA 后，上、中部切段能形成芽，中部还能形成根，表明中部切段的内源细胞分裂素也有所不足。

在附加 BA 1.0 mg/L + NAA 0.1mg/L 的培养基上，金鱼草下胚轴上、中、下不同部位切段的不定芽发生明显好于单独供给 NAA 或 BA 的。不论是哪一种切段，在切口处均有愈伤组织发生，其中一端为较大的绿色愈伤组织，另一端为较小的黄白色愈伤组织。培养 10 d 左右，在外植体的愈伤组织处以及外植体上部均产生出不定芽。其中上部切段不定芽发生频率为 35%，中部切段为 55%，下部切段的不定芽发生率则达 90%，并且再生芽的叶片已经开始展开。生长 40 d 后，上部切段发根率为 77.8%，成枝率为 100%，幼枝叶色绿，长势强。中部切段发根率为 85%，成枝率为 100%，幼枝叶色绿，长势也强。下部切段发根率为 100%，成枝率 100%，幼苗叶色浓绿，长势也最强。

以上结果表明：a. BA 对下胚轴中、上部切段形成不定芽有促进作用。b. 随培养时间的延长，添加 NAA 也有促进下胚轴切段不定芽发生的效果。c. NAA 对 BA 促进不定芽形成起增效作用。d. 在外源供应生长素和细胞分裂素的条件下，金鱼草胚轴的上、中、下部切段均具有形态发生能力。但上、中、下部切段培养物的形态发生进程和不定枝、不定根的生长表现还是有区别的。这提示沿着胚轴纵轴的生理差异不仅仅限于内源生长素和细胞分裂素含量水平的差异。

表1 金鱼草下胚轴不同部位切段的芽（枝）与根的分化情况

Table 1 Differentiation of adventitious buds (shoots) and roots on different segments of *A. majus* hypocotyl

培养天数 Days cultured(d)	培养基 Medium(mg/L)	不定芽(枝)发生(%) Adventitious buds (shoots) formation(%)			不定根发生(%) Adventitious roots formation(%)		
		上 upper	中 middle	下 lower	上 upper	中 middle	下 lower
14	MS	-	-	70	-	-	-
	MS + NAA0.1	-	-	48.5	80.5	8.5	94.5
	MS + BA1.0	5.5	18.4	76.5	-	-	-
	MS + BA1.0 + NAA0.1	35	55	90	-	-	-
40	MS	n	n	60	n	n	58.7
	MS + NAA0.1	15	15	87.5	100	100	100
	MS + BA1.0	n	13.8	73.5	n	5.5	55.6
	MS + BA1 + NAA0.1	100	100	100	77.8	85	100

注：-表示没有形态发生；n表示外植体死亡 Note: - denote no morphogenetic response; n: denote explants necrosis

2.2 不同浓度的BA与NAA对金鱼草下胚轴近基切段器官发生的影响

为进一步了解BA和NAA促进金鱼草下胚轴近基部切段培养物器官发生的最适浓度而进行了本实验，结果见表2。

表2 金鱼草下胚轴近基切段在不同浓度BA与NAA培养基上的芽、根分化情况（培养14d）

Table 2 Differentiation of adventitious buds and roots in the basal segments of *A. majus* on the medium supplemented with different concentration of BA and NAA. (14 days cultured)

培养基 Medium(mg/L)	不定芽发生 Adventitious buds formation(%)	芽数目/切段 No. of buds per section	苗高度 Height of shoot (mm)	根发率 Roots for mation(%)	根数目/切段 No. of roots per Section	根长 Length of root(mm)
MS	70	2.8	4.7	-	-	-
BA0.1	75	3.0	7.3	-	-	-
BA0.5	84.2	3.4	7.8	-	-	-
BA1.0	94.7	3.5	7.7	-	-	-
BA1.5	90	3.6	7.2	-	-	-
NAA0.05	50	2.7	2.5	90	2.3	6.1
NAA0.1	56.5	2.3	4.3	91.2	3.3	8.9
NAA0.15	73.6	2.5	4.2	100	3.7	9.1
NAA0.2	45	2.4	3.4	90	2.4	9.2

注：-表示无形态发生 Note: - denote no morphogenetic response

由表2可以看出：BA促进不定芽发生的最适浓度为1.0 mg/L，不仅提高了不定芽发生的百分率，而且每个切段的成芽数和不定芽生长也明显有所促进。NAA在浓度为0.15 mg/L时，不定芽的发生与对照持平，同时根的发生也有良好表现。这与表1培养14 d所示的实验结果不同，看来是表1实验中NAA没有处于最适浓度所致。适当提高BA的浓度，可以增加不定芽的发生，但对不定根发生不利（表2）。在培养基中只添加少量NAA，可以既能促进外植体长根又不影响不定芽发生，但是不定芽的数目较少，长势也较弱（表2）。因此要获得壮苗，还必须探讨细胞分裂素与生长素之间的适宜配比问题。

根据表1、表2的实验结果，本文中附加BA 1.0 mg/L和NAA 0.1 mg/L培养基，既能

得到壮苗，同时稍迟又能从苗的基部发出根来。因此，培养金鱼草胚轴切段再生植株时，以同时添加 BA 和 NAA 为好，适宜剂量为 BA 1.0 mg/L，NAA 升高至 0.15 mg/L 可能会比 0.1 mg/L 更好。

3 讨论

本文表 1 培养 14 d 的实验结果表明：金鱼草下胚轴近基切段培养物在无激素培养条件下有较高的不定芽发生率而无不定根的发生。这一结果与 Okubo 等（1991）的文章中近基切段不定芽发生率高是由于近基切段内源细胞分裂水平高而 IAA 水平低的判断相一致。添加 NAA 0.1 mg/L 使不定芽发生明显下降，而 BA 1.0 mg/L 和 NAA 0.1 mg/L 的同时添加又可进一步提高不定芽发生率的添加实验结果也可作为上述判断的旁证。但是本文表 1 培养 40 d 的结果显示 NAA 0.1 mg/L 的添加也有可能促进不定芽的发生。BA 1.0 mg/L + NAA0.1 mg/L 更使下胚轴基部切段的不定芽发生达 100%。表 2 中显示 BA 1.0 mg/L 的添加可以明显促进不定芽发生而 NAA 0.15 mg/L 的添加又基本上不影响不定芽的发生和生长。这些结果提示：在探讨金鱼草下胚轴近基部切段不定芽发生率高的原因时，不能简单归诸于内源细胞分裂素和生长素的含量水平。在分析内源激素含量水平的基础上进行外源添加的反馈试验将有助于对事物的认识更明确更深入。

参考文献

沈洁明，孙君亮，杨维东等，1990. 金鱼草的组织培养. 植物生理学通讯，**26**（1）：51

余迪求，邓庆丽，沈亚楠等，1996. 金鱼草下胚轴组织培养的研究. 园艺学报，**23**（1）：99～100

Harte C，Lennartz G，Schwenzer－Rodrigues N，1991. Time correlation and gene action in growth and differentiation of generation callus on stem explants of *Antirrhinum majus* L. and some mutants. *Biologisches Zentralblatt*，**110**（4）：263～283

Holford P，Newbury H J，1992. The effects of antibiotics and their breakdown products on the *in vitro* growth of *Antirrhinum majus*. *Plant Cell Rept*，**11**（2）：93～94

Luo D，Carpenter R，Vincent C *et al*，1996. Origin of floral asymmetry in *Antirrhinum*. *Nature*，**383**（6603）：794～799

Okubo H，Wada K，Uemotos S，1991. *In vitro* morphogenetic response and distribution of endogenous plant hormones in hypocotyl segments of Snapdragon（*Antirrhinum majus* L.）. *Plant Cell Rept*，**10**（10）：501～504